

Regulación del crecimiento y desarrollo de los cítricos ('Regulation of growth and development')

Centro de Citricultura y Producción Vegetal.
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias.

Ctra. Moncada-Náquera Km. 4,5.
46113 Moncada (VALENCIA).

Email: iglesias_dom@gva.es

La **regulación del crecimiento y desarrollo de los cítricos** engloba numerosos aspectos de su biología y comprende un amplio abanico de procesos fisiológicos que se suceden a distintos niveles. Es interesante resaltar que los cítricos presentan toda una serie de peculiaridades en su fisiología que los diferencian del resto de especies de frutales leñosos y que los convierten en un cultivo modelo para el estudio de su crecimiento y desarrollo.

En la sesión del XII Congreso de citricultura dedicada a este tema se presentaron un total de 19 comunicaciones, 6 de las cuales fueron orales y el resto en forma de pósters (véase libro de resúmenes en www.citruscongress2012.org). La sesión comenzó con un resumen del estado actual del conocimiento por parte del Prof. E. Goldschmidt, investigador israelí en este área durante más de cincuenta años, que proporcionó una perspectiva histórica -a través de su visión personal- de lo que fue y ha venido siendo la investigación en cítricos en materia de regulación del desarrollo desde sus inicios hasta la actualidad. Tal y como relató, los objetivos de la misma han ido evolucionando en forma de etapas muy estrechamente ligadas al progreso tecnológico. Así, a mitad del siglo pasado los

avances en las *técnicas microscópicas* impulsaron el desarrollo de trabajos morfológicos, anatómicos e histológicos. Más tarde, con la aparición del concepto de *balance hormonal*, las hormonas vegetales adquirieron un papel preponderante. La puesta a punto de novedosas técnicas de identificación y cuantificación permitió no sólo el desarrollo de trabajos muy originales y punteros para la época -analizando con gran detalle su papel en los distintos eventos fisiológicos-, sino que también se estudió a fondo el efecto de las giberelinas, auxinas y citoquininas como consecuencia de tratamientos agronómicos. Fue ésta, por excelencia, la época de las aplicaciones hormonales de todo tipo y condición en campo, y de los ensayos correspondientes en el laboratorio. El surgimiento posterior del concepto de *balance entre fuentes y sumideros*, junto con todas sus implicaciones, restó protagonismo a las hormonas. Las nuevas hipótesis derivadas de esta teoría implicaban que el estado nutricional -principalmente determinado por los niveles de carbohidratos- constituye un elemento crucial para un adecuado crecimiento y desarrollo de la planta.

Con los avances tecnológicos de los últimos tiempos, las nuevas herramientas bioquímicas y moleculares han impulsado el estudio de aspectos muy novedosos de la regulación del crecimiento y desarrollo de los cítricos, habiéndose traducido en hallazgos sin duda inimaginables hace tan sólo unas décadas. De hecho, un buen ejemplo fue la exposición de un estudio por parte del mismo Prof. Goldschmidt en el que su grupo investigó las bases moleculares de las interacciones entre variedad y patrón a nivel del injerto. A pesar de que ésta es una técnica de propagación muy común en culti-

vos hortícolas, la base fisiológica de las **interacciones variedad-patrón** no es bien conocida. Pese a que algunas aproximaciones sugieren un papel preponderante de algunas hormonas en el proceso, los fenómenos subyacentes a nivel bioquímico y molecular son en buena medida desconocidos. En esta intervención se describió el papel de algunos **microRNAs** que alteraron drásticamente sus niveles de expresión en función de la combinación variedad-patrón. Éstas y otras técnicas punteras como el empleo de *micromatrices* de cítricos, la secuenciación del **genoma** o el análisis del **proteoma** han sido objeto de variadas intervenciones, brindándonos la oportunidad de contemplar aspectos hasta hoy inexplorados de la fisiología de los cítricos.

Tal y como se ha comentado, el desarrollo y crecimiento de los cítricos engloba un amplio abanico de procesos fisiológicos que, clásicamente, se dividen en **vegetativos** y **reproductivos**. A pesar de que contamos con numerosos resultados obtenidos fruto de las investigaciones desarrolladas en las últimas décadas, algunos aspectos todavía desconocidos han sido tratados en varios estudios presentados al Congreso. Así por ejemplo, una de las comunicaciones profundizó en la regulación del tiempo de desarrollo vegetativo y reproductivo para el caso particular de *Citrus latifolia* en climas tropicales (Medina-Urrutia y cols.). Adicionalmente ya ha sido mencionada la importancia de los **factores nutricionales y hormonales** en la mayor parte de los procesos del desarrollo de los cítricos y, particularmente, el papel de las hormonas en diversos procesos reguladores, habiendo sido objeto de intenso debate en distintos foros a lo largo del Congreso.

Los cítricos, al igual que muchas otras especies leñosas, florecen abundantamente y, por su importancia agronómica, durante la presente sesión se ha dedicado una atención especial al estudio de los procesos fisiológicos relacionados con la **floración**. A diferencia de otros climas, la inducción floral tiene lugar en nuestras latitudes en otoño/invierno, mientras que la diferenciación floral sucede en primavera. En su regulación se ha distinguido históricamente entre factores exógenos y endógenos. Los primeros incluyen fundamentalmente *parámetros climáticos*, de manera que variables ambientales tales como la temperatura, el fotoperíodo o las condiciones de estrés (déficit hídrico o salinidad, por ejemplo) son capaces de modular las respuestas fisiológicas consiguientes. En este sentido, se presentaron algunas comunicaciones ahondando en los aspectos más relevantes.

Por su parte, dentro de los *factores endógenos* que regulan el proceso de floración se incluyen los genéticos o moleculares y también los hormonales. Las *fitohormonas*, tales como citoquininas, auxinas o giberelinas, son bien conocidas por su papel en este contexto y, en particular, éstas últimas han sido tradicionalmente consideradas como inhibidores esenciales de la inducción floral. Precisamente, ilustrando aspectos tanto teóricos como aplicados de la regulación hormonal de la floración, se presentaron al Congreso algunos trabajos muy sobresalientes. En uno de ellos, por ejemplo, se mostró que el inhibidor de las giberelinas paclobutrazol (PCB) aplicado en mandarinas Hernandinas es capaz de afectar severamente al patrón de acumulación de carbohidratos en sus distintos órganos, con consecuencias muy marcadas en la floración (Martínez-Fuentes y cols.). El trabajo presentado reveló que la aplicación al suelo de este compuesto durante el período de inducción floral (noviembre) incrementó significativamente la floración al año siguiente, con el consiguiente interés agronómico.

También la presencia de fruta constituye un inhibidor muy importante de la floración en cítricos. La **alternancia de cosechas**, que consiste básicamente en la sucesión de años con elevada producción y años de muy baja o nula cosecha, reduce los ingresos de los agricultores en ocasiones de un modo muy marcado. Por ello

es importante entender cuáles son las bases fisiológicas de este fenómeno, que varía en intensidad en función de la variedad y especie de cítrico de que se trate (Figura 1). Varios trabajos recientemente publicados por nuestro grupo de investigación (Muñoz-Fambuena y cols., 2011, 2012) describen de un modo muy preciso el modo en que la carga de fruta actúa como inhibidor de la floración y profundizan en su regulación molecular. Los resultados revelaron que, tanto a nivel de hojas como de yemas, el gen promotor *CiFT* desempeña un papel crucial en la determinación de la floración y su expresión en variedades alternantes se ve fuertemente modulada por la presencia de fruta a través de mecanismos represores.

Varias ponencias en la sesión se centraron en el estudio de la alternancia de cosechas. La primera fue liderada por la Dra. Carol Lovatt, cuyo grupo ha estudiado el proceso haciendo uso de distintas aproximaciones. De acuerdo con sus datos, los años caracterizados por una elevada carga de fruta parecen estar directamente relacionados con cambios muy patentes en los niveles de ciertas hormonas -afectando de forma muy marcada, por ejemplo, al balance auxinas: citoquininas-, lo cual se traduce en una reducción del número de inflorescencias al año siguiente. La inyección al tronco de inhibidores del transporte de auxinas y/o citoquininas en julio y en enero redujo drásticamente el efecto de la presencia de fruta sobre la floración, lo que podría representar una mejora en el desarrollo de **aplicaciones y tratamientos agronómicos** en algunas variedades muy alternantes. Del mismo modo se expusieron avances en el conocimiento de las **bases moleculares** subyacentes a la alternancia de cosechas. Así, la Dra. Nishikawa expuso un estudio detallado del papel del gen *CiFT* sobre la supresión de la floración inducida por la presencia de fruta en mandarinos de la variedad Satsuma, confirmando los resultados de nuestro grupo de trabajo antes descritos. Este gen es muy relevante en la floración, hasta el punto de que algunas investigaciones lo asocian directamente con el mítico "florigeno". Su expresión en el período de inducción floral correlacionó negativamente con el peso de fruta cosechada y positivamente con el número de flores producidas en la primavera siguiente, confirmando que el exceso de fruta reduce el número de flores la primavera siguiente a

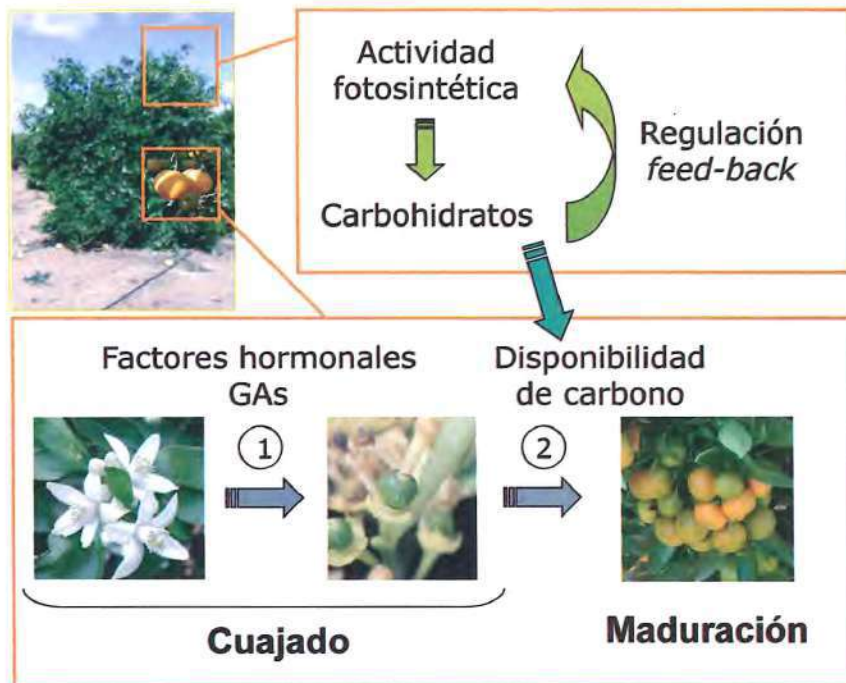
través de la supresión de la expresión del gen *CiFT*, lo que parece constituir un fenómeno generalizado en todas las especies y variedades de cítricos.

La **regulación del crecimiento y desarrollo del fruto** constituyó una parte muy importante en el desarrollo de las discusiones derivadas de los trabajos presentados al Congreso. En primer lugar, se mostraron estudios novedosos sobre **fecundación y polinización**. Así por ejemplo, Abe y cols., han identificado con precisión ciertas proteínas expresadas en el tubo polínico, algunas de las cuales podrían ser relevantes en reacciones de compatibilidad entre variedades.

También se presentaron progresos en relación con el papel de las hormonas -fundamentalmente auxinas, giberelinas y citoquininas- y nutrientes en distintos momentos del *desarrollo del fruto* (Figura 2). Varios grupos contrastaron el efecto de aplicaciones hormonales en distintas concentraciones sobre el **cuajado del fruto**, confirmando datos previos en otras especies y variedades y matizando para casos y áreas de estudio específicas. Asimismo, su efecto a nivel de productividad y calidad de la fruta fue objeto de debate en algunas comunicaciones. Así por ejemplo, Galván y cols. contemplaron el efecto de algunas hormonas y micronutrientes -aplicadas a diferentes concentraciones- sobre la calidad y producción de naranjas de la variedad Valencia en México. Como era de esperar, la aplicación de compuestos de naturaleza hormonal y de micronutrientes tuvo, en general, un efecto muy positivo sobre la mayor parte de las variables evaluadas. Otros equipos participantes, por su parte, experimentaron en Italia el efecto de aplicaciones de compuestos de naturaleza hormonal sobre distintos parámetros reproductivos de mandarinas clementinas, entre ellos cuajado, tamaño del fruto, productividad y la calidad final de la fruta. Sus resultados confirmaron en buena medida observaciones previas ya reportadas en nuestras áreas de estudio. Uno de ellos (Zurru y cols.) determinó el efecto del *Triclopyr* (ácido 3,5-6-tricloro-2-piridiloxiacético) como alternativa al 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético) para el control de la abscisión y calidad final de la fruta. El tratamiento aplicado fue más efectivo sobre frutos de 18-22 mm de diámetro (alrededor de mitad de julio), incrementando significativamente el tamaño final y, en ocasio-

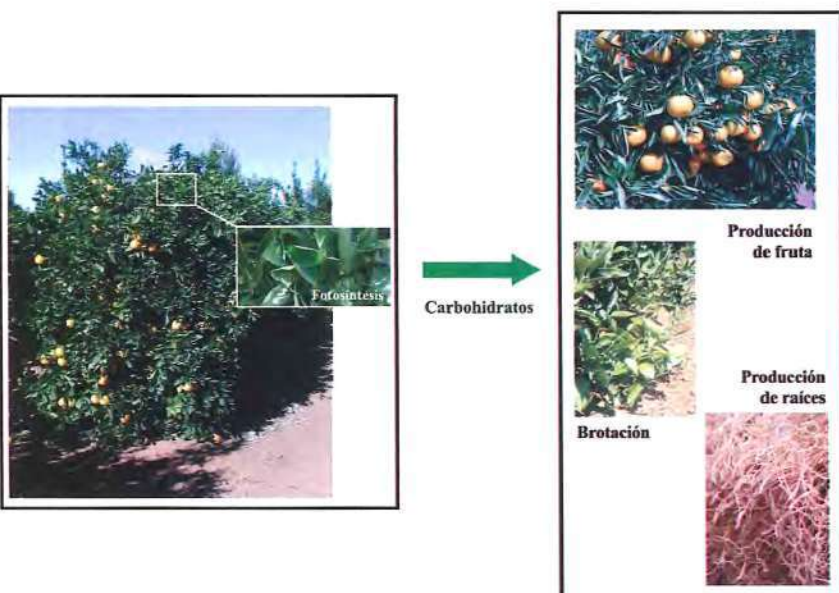


▲ **FIGURA 1.** La presencia de fruta inhibe la floración en árboles adultos de cítricos, fenómeno especialmente relevante en las variedades más alternantes. La fotografía muestra un detalle de un árbol adulto en el que flores y frutos coexisten en sus ramas. En el presente Congreso se han presentado distintos trabajos analizando el modo en que el fruto inhibe la floración a distintos niveles, tanto fisiológico como también metabólico y molecular (adaptado de Muñoz-Fambuena y cols., 2011).

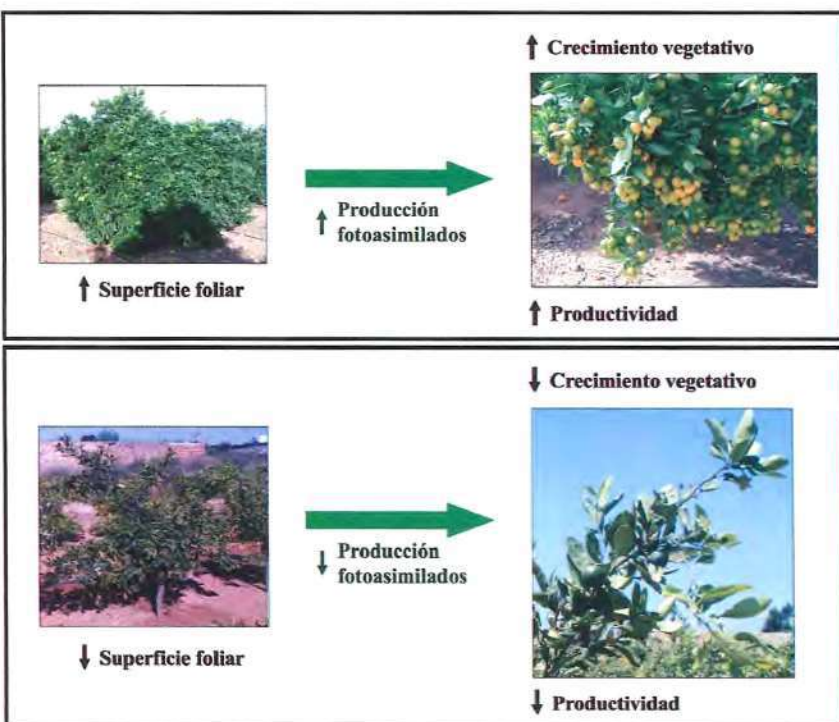


▲ **FIGURA 2.** Regulación del cuajado y desarrollo del fruto. Además de la floración, los factores nutricionales y hormonales constituyen reguladores fundamentales de ambos procesos. Las giberelinas parecen jugar un papel crucial en la transición ovario-fruto mientras que, una vez activado el crecimiento, su desarrollo posterior se encuentra principalmente modulado por la disponibilidad de nutrientes (adaptado de Iglesias y cols., 2010).

▲ **FIGURA 3.** Esquema general del proceso de fotosíntesis. A partir de las sales minerales que la planta obtiene del suelo y del CO_2 de la atmósfera, ésta produce fotoasimilados en sus órganos fotosintéticos (principalmente, hojas) que son transformados en carbohidratos y distribuidos a los diferentes órganos en crecimiento. Por consiguiente, un incremento de la actividad fotosintética genera un aumento de la fijación de carbono que se traduce en un mayor crecimiento vegetativo y una mejora de la productividad (adaptado de Iglesias y cols., 2003).



▲ **FIGURA 4.** Relación entre superficie foliar y productividad. En principio, una mayor superficie foliar implica una mayor capacidad fotosintética, mientras que una menor área foliar genera, como consecuencia de la menor producción de fotoasimilados, un menor crecimiento vegetativo y una menor producción de fruta. No obstante, existen distintos mecanismos fisiológicos de ajuste entre los niveles de carbohidratos acumulados en las hojas y sus tasas de fotosíntesis, maximizando así el número de frutos que llegan al final de su proceso de crecimiento (adaptado de Iglesias y cols., 2003)



▲ **FIGURA 5.** Cítrico adulto con síntomas de estrés muy marcados. Como consecuencia de las condiciones ambientales adversas, la afección de procesos metabólicos a distintos niveles suele conferir al vegetal un aspecto muy deteriorado. En general, el potencial fotosintético de las hojas disminuye -en ocasiones muy notablemente- hasta el punto de que, si la situación se prolonga en el tiempo, éstas acabarán abscindiendo siguiendo una secuencia hormonal característica. Esta situación provoca una defoliación más o menos rápida en el tiempo que, en ocasiones, es también acompañada de una caída de frutos que puede causar graves daños al vegetal (adaptado de Iglesias y cols., 2005).

nes, también la cosecha. Sin embargo, cuando se aplicó a frutos más pequeños (6-13 mm diámetro), se observó un fuerte efecto abscisor afectando de un modo muy negativo a la cantidad y calidad de la fruta final. Otro grupo, también italiano (Tumminelli y cols.), confirmó el efecto del 3,5,6-TPA sobre la productividad, calidad de la fruta y alternancia de cosechas de algunas variedades de naranjo *Citrus sinensis* -entre ellas "Tarocco".

Ahora bien, las aplicaciones hormonales no solamente se emplean con objeto de incrementar la productividad y la calidad final de la fruta, sino que en ocasiones también pueden ser de gran utilidad para reducir intencionadamente el número de frutos en desarrollo en los árboles minimizando, de esta manera, su carga de fruta. Así, el efecto de las aplicaciones de ácido naftalén-acético como agente aclarante previo a la caída fisiológica de los frutos en desarrollo fue ensayado en Concordia (Entre Ríos, Argentina) por Rivadeneira y cols. Su conclusión, aplicable a plantaciones de la variedad de mandarina Satsuma Okitsu quedó patente, sugiriendo que el aclareo químico -siempre y cuando la gestión del cultivo lo permita-, puede llegar a ser una herramienta muy útil para optimizar la producción en estas latitudes.

Por otra parte, es bien conocido cómo los factores exógenos -fundamentalmente los **parámetros ambientales**- afectan al desarrollo en general de los cítricos y, en particular, a su productividad. Pérez y cols., examinaron el efecto de las variables climáticas sobre la productividad y calidad de la fruta de algunas variedades de cítricos en Cuba. Todas las variables consideradas mostraron una correlación positiva muy marcada, de tal manera que el inicio de la floración se relacionó estrechamente con el espectro de temperaturas extremas. Más aún, las condiciones meteorológicas que favorecieron la inducción floral retardaron el inicio de la floración, mientras que la duración de la misma pareció más bien dependiente de las temperaturas medias. Durante el período de cuajado las mayores tasas de abscisión se observaron en condiciones de estrés hídrico, y es de destacar que también el crecimiento del fruto se vio altamente afectado por los parámetros ambientales propios de esas latitudes. Finalmente se presentaron modelos predictivos

de gran interés aplicado, sobre todo en áreas sensibles al cambio climático.

Otros trabajos profundizaron en el modo en que algunos parámetros ambientales -por ejemplo, la temperatura- afecta a la captación de carbono y, por consiguiente, al crecimiento de los cítricos, y también el modo en que estreses tales como el déficit hídrico o el oxidativo afectan al desarrollo de las plantas. El Dr. Ribeiro detalló el modo en que algunos parámetros climáticos, fundamentalmente el rango de variación de las **temperaturas** diarias, modifican el crecimiento vegetativo y el **metabolismo del carbono** en naranjos en algunas áreas de Brasil, particularizando en las diferencias observadas entre patrones. De sus datos se desprende que se produce un incremento significativo del área foliar de aquellas plantas sometidas a una mayor variación en el rango diario de temperaturas sugiriendo que, junto con la estimulación de la actividad fotosintética, parece existir una regulación hormonal subyacente (Figuras 3 y 4).

Otra línea de investigación intensamente tratada versó acerca del **efecto de algunos estreses ambientales sobre el desarrollo vegetativo y reproductivo** (Figura 5), atendiendo especialmente a los **cambios metabólicos y bioquímicos** desencadenados por las condiciones ambientales adversas y a los procesos fisiológicos mediadores (por ejemplo, daño oxidativo). Así, algunas comunicaciones reportaron incrementos de las concentraciones de ciertos metabolitos -entre ellos, prolina-, en concordancia con datos previos publicados y confirmando que la respuesta a estreses medioambientales es marcadamente dependiente de la variedad.

Pese a que las alteraciones metabólicas y bioquímicas en condiciones ambientales adversas son bastante bien conocidas en cítricos, las **bases moleculares de las respuestas observadas** son, en su mayor parte, desconocidas. Los Drs. Chica y Albrigo explicaron un original estudio que profundiza en las bases moleculares por las cuales el déficit hídrico y las giberelinas alteran el patrón normal de la floración. Así, en condiciones de falta de agua, la expresión del gen promotor *CiFT* se vio incrementada mientras que la acumulación de genes de diferenciación floral se redujo considerablemente.

Finalmente, es interesante remarcar que algunas charlas hicieron hincapié en las **nuevas estrategias de gestión de los cultivos en base a sus respuestas frente a estreses**. Así, varios estudios desarrollados en el UF CREC (*University of Florida Citrus Research and Education Center*) se centraron en el modo en que **la gestión del uso del agua puede servir para optimizar la intensidad de floración y maximizar la productividad**. En particular, el Dr. Albrigo presentó un ensayo -llevado a cabo en Sao Paulo-Mina Gerais, en Brasil- en el que, mediante el empleo de cantidades deficitarias de agua de riego fue optimizada la intensidad de floración para conseguir elevadas producciones de fruta. Complementariamente, Okuda y cols., evaluaron el efecto del *etilclozate* -que parece inhibir la captación de agua a nivel de las raíces- sobre distintos parámetros fisiológicos y sobre la calidad final de la fruta de mandarinos de la variedad Satsuma. En Japón la mayoría de plantaciones comerciales de esta variedad reciben grandes cantidades de agua de lluvia durante el período de maduración de la fruta, por lo que ésta puede verse seriamente comprometida. El tratamiento que aplicaron redujo activamente la captación de agua por parte de las raíces de las plantas, consiguiendo un efecto muy positivo y sugiriendo que la aplicación de este compuesto a principios del verano podría ser de utilidad para generar un cierto déficit hídrico en las raíces, mejorando así la calidad final de la fruta.

Referencias

- Agustí M (2000) Citricultura. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- Goldschmidt EE, Koch KE (1996) Citrus. En: Zaminski, E., Schaffer, A.A. (eds.). Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relations. Marcel Dekker, New York, NY, pp 797-823.
- Iglesias DJ, Tadeo FR, Talón M (2003) Relación entre productividad, superficie foliar y fotosíntesis en cítricos. *Levante Agrícola*, 364: 30-36.
- Iglesias DJ, Gómez-Cadenas A, Moya JL, Arbona V, Ibáñez V, Primo-Millo E, Talón M (2005) Efectos de la salinidad en los cítricos: fundamentos fisiológicos y estrategias agronómicas para mejorar la tolerancia. *Levante Agrícola*, 374: 32-41.
- Iglesias DJ, Cercós M, Colmenero-Flores JM, Naranjo MA, Ríos G, Carrera E, Ruiz-Rivero O, Lliso I, Morillon R, Tadeo FR, Talón M (2010) Citrus: an overview of fruiting physiology. En: *Ecophysiology of Tropical Tree Crops*. Nova Science Publishers. ISBN 978-16-0876-392-4. Hauppauge, NY, USA.
- Muñoz-Fambuena N, Mesejo C, González-Mas MC, Primo-Millo E, Agustí M, Iglesias DJ (2011) Fruit regulates seasonal expression of flowering genes in alternate bearing 'Moncada' mandarin. *Annals of Botany*, 108: 511-519.
- Muñoz-Fambuena N, Mesejo C, González-Mas MC, Primo-Millo E, Agustí M, Iglesias DJ (2012) Fruit load modulates flowering-related gene expression in buds of alternate-bearing 'Moncada' mandarin. *Annals of Botany*, 110: 1109-1118.